**载体工程中心服务手册（试行）**

1. **服务内容**

载体工程中心目前可对北京脑科学与类脑研究中心（以下简称北京脑中心）内所有成员提供如下服务，后期将会陆续增加病毒载体种类和更多服务内容。所有服务按照先到先得的原则，根据收到服务申请的时间先后顺序安排。

1. 病毒载体服务
	1. rAAV病毒载体服务
* [常用rAAV载体工具预包装现货](#Service111_常用rAAV载体工具预包装现货)
* [按需包装、浓缩rAAV载体](#Service112_按需包装、浓缩rAAV病毒载体)
* [按需构建rAAV载体质粒](#Service113_构建pAAV载体质粒)
	1. Lentivirus和Retrovirus病毒载体服务
* [按需包装、浓缩Lentivirus和Retrovirus病毒载体](#Service121_包装浓缩Lentivirus和Retrovirus)
* [按需构建Lentivirus和Retrovirus载体质粒](#Service122_构建Lentivirus和Retrovirus载体质粒)
	1. 其它病毒载体服务（待开发）
1. 实验材料共享库
	1. [购买质粒和细胞系](#Service21_购买质粒和细胞系)
	2. [捐赠可共享的质粒和细胞系](#Service22_捐赠可共享的质粒和细胞系)
	3. [领取共享质粒和细胞系](#Service23_领取共享质粒和细胞系)
2. 仪器设备和实验空间共享
	1. [超速离心机共享使用](#Service31_超速离心机共享使用)
	2. [常规小型仪器设备共享](#Service32_常规小型仪器设备共享)
	3. [BSL-2实验室和常规实验空间共享](#Service33_BSL2实验室和常规实验空间共享)
3. 其他服务
	1. [质粒大提（maxiprep）服务](#Service41_质粒大提)
	2. [培养细胞支原体检测服务](#Service42_培养细胞支原体检测服务)
	3. [常用细胞培养和分子克隆试剂的应急供应](#Service43_常用细胞分子试剂应急供应)
4. **服务收费**

为提高服务效率和避免浪费，载体工程中心的服务均需收取适当费用。服务收费标准主要基于服务项目成本核算，同时参照其他单位和公司服务的收费标准，对北京脑中心内部成员予以最大的优惠；为鼓励开放共享的工作环境，特针对同意共享实验材料的服务提供了额外优惠。上述服务费的收取不以营利为目的，仅用于承担部分日常运行开支、试剂成本和仪器保养维护。

载体工程中心将按照实验室为单位，按自然月统计所提供的服务数量及服务费，经PI或实验室负责人确认后提交财务，由北京脑中心统一收取。

载体工程中心

2019年12月31日

**载体工程中心服务细则**

* 1. **常用rAAV载体工具预包装现货**

载体工程中心长期储备有多种常用rAAV病毒载体预包装现货（pre-made），以供北京脑中心各实验室科研人员随时取用。载体工程中心将持续增加种类和补充数量，定期整理更新预包装rAAV病毒载体现货列表，通过邮件方式发送至实验室工作人员和学生，同时上传至载体工程中心主页。

病毒载体中心的rAAV病毒载体滴度可保证1×1012 gc/ml 以上（视血清型而定，实际滴度请见列表或网页更新），预包装现货一般按20μl分装。为避免浪费，**同种rAAV预包装病毒载体每人每两周限领取一支**（20μl）；如有特殊情况，请与相应工作人员联系，说明理由；如短期内需大量使用同种rAAV病毒载体（>5支），建议申请服务项目“[1.12 按需包装、浓缩rAAV病毒载体](#Service112_按需包装、浓缩rAAV病毒载体)”。

**注意：重组rAAV病毒载体需在BSL-1和ABSL-1以上级环境中使用及操作；如果表达致癌和有毒基因，则需BSL-2和ABSL-2环境。请使用者务必遵守北京脑中心生物安全相关规范。**

北京脑中心科研人员请遵循以下流程申领现货rAAV病毒载体。

1. 在邮件或网页查询rAAV病毒载体现货列表。
2. 如果列表中包括实验所需的rAAV载体，并联系载体中心管理员（鞠英姿，juyingzi@cibr.ac.cn）确认载体库存并预约领取时间；如所需病毒尚无预包装现货，请申请“[1.12 “按需包装、浓缩rAAV病毒载体](#Service112_按需包装、浓缩rAAV病毒载体)” 服务。

*注：为简化流程，领用与包装病毒无需再经实验室负责人签字。*

1. 请申请者自备冰盒，按预约时间准时到载体中心实验室（1013室）领取所申请的预包装rAAV重组病毒，并签字登记；如无法按预约时间准时领取，请提前告知。

*注：rAAV载体可在4oC下稳定存放数月而不明显影响滴度，但请避免反复冻融。*

为更好的进行质量控制以提高服务水平，病毒载体中心将对所有提供的病毒载体进行质量追踪，请病毒载体使用者务必及时反馈使用该病毒载体的使用情况，反馈内容包括但不限于：病毒载体名称、实验动物信息（品系、性别、年龄等）、细胞系信息（细胞系）、病毒使用参数（滴度、体积、注射脑区、坐标、观察结果时间等）、病毒载体使用结果（荧光信号情况、目标基因表达情况、实验结果）等。

**载体工程中心服务细则**

* 1. **按需包装、浓缩rAAV病毒载体**

载体工程中心为北京脑中心各实验室科研人员提供rAAV病毒载体的按需包装和浓缩服务。若科研人员所需的rAAV病毒载体数量较多或没有预包装现货，请选择该项服务。

目前载体工程中心可稳定成熟包装rAAV2/9、rAAV2/retro、rAAV/PHP.eB；也拥有rAAV2/1、rAAV2/2、rAAV2/5、rAAV2/7、rAAV2/8、rAAV2/rh10、和rAAV2/DJ8等包装系统，科研人员可根据实验要求按需选择。科研人员可以选择由载体工程中心提供全部rAAV包装服务，也可以自己进行转染而由载体工程中心提供rAAV病毒纯化浓缩服务。

为鼓励实验材料共享，载体工程中心专门针对同意共享的rAAV包装服务提供额外优惠。如果同意共享，载体工程中心将会把申请者提供的pAAV质粒纳入共享库，同时将额外包装的rAAV病毒纳入预包装病毒现货；如果申请者不同意实验材料共享，载体工程中心将不会保留任何质粒、菌液、或rAAV病毒载体备份。

北京脑中心科研人员请按照以下流程申请rAAV病毒载体包装和浓缩服务。

1. 填写“rAAV包装”（[Form\_VC121](Form_VC121_rAAV_Packaging.docx)）服务申请表或“自包装病毒载体浓缩”（[Form\_VC123](Form_VC123_Concentrating_selfpackaged_vector.docx)）服务申请表，以邮件方式发送给载体中心管理员（鞠英姿，juyingzi@cibr.ac.cn），并抄送给申请人所在实验室负责人（PI或技术中心主任）和载体工程中心主任（赵非，zhaofei@cibr.ac.cn）。

*注：如需rAAV浓缩服务，请提前联系载体工程中心以确认时间安排。*

1. 载体工程中心会在第一时间回复邮件以确认服务申请，并以申请表为依据，按照邮件接收顺序尽快安排实验。如需更改或取消申请，请及时以邮件方式告知；若已经开始包装或浓缩病毒，则该服务无法更改或取消，载体工程中心会以邮件形式反馈。

*注：为简化服务申请流程，不再需要实验室负责人在病毒包装浓缩服务申请表签字。*

1. 载体工程中心的共享质粒库中保存有众多pAAV可供选择用于rAAV包装，科研人员可查阅质粒列表，将需要包装的质粒编号提供给载体工程中心。
2. 如果科研人员所需的pAAV克隆（或包装质粒）不在质粒库中，可以自行获取或构建质粒后提供给载体工程中心，也可以选择“[1.13 构建pAAV载体质粒](#Service113_构建pAAV载体质粒)”服务。
3. 申请者可提供pAAV质粒，由载体工程中心进行转化并继续后续包装工作；也可以提供含相应pAAV质粒的单克隆平板或菌液（推荐），由载体工程中心扩大培养提取质粒进行病毒包装。质粒质量直接影响rAAV包装效果，如无特殊原因，不建议申请者直接提供转染用质粒。

*注：请务必确认所提供pAAV克隆的正确性。*

1. 为节省包装服务排队等候时间，科研人员也可以自行完成转染等程序，再提供粗病毒液由载体工程中心进行rAAV纯化浓缩。申请纯化浓缩服务请提前联系载体工程中心以确认时间安排。建议至少转染3×15 cm2培养皿细胞以保证纯化浓缩的效率，并在约定时间提供粗病毒液。
2. 包装浓缩完成后，载体工程中心通过qPCR测定rAAV滴度，该测定值为rAAV基因组拷贝数（genome copy/ml），不是病毒载体实际感染滴度。

*注：载体工程中心保证所包装rAAV病毒载体最终滴度不低于1×1012 gc/ml，但无法保证自包装病毒浓缩服务所得rAAV载体的最终滴度。*

1. 包装或浓缩服务完成后，载体工程中心将以邮件的方式通知申请人。
2. 请领取人自备冰盒，按预约时间准时到载体中心实验室（1013室）领取rAAV重组病毒，并签字登记。载体工程中心将一次性将所得rAAV载体交给领取人。

*注：领取rAAV后请尽快按适合实验需求的体积分装，保存于-80oC并避免反复冻融。*

为更好的进行质量控制以提高服务水平，病毒载体中心将对所有提供的病毒载体进行质量追踪，请病毒载体使用者务必及时反馈使用该病毒载体的使用情况，反馈内容包括但不限于：病毒载体名称、实验动物信息（品系、性别、年龄等）、细胞系信息（细胞系）、病毒使用参数（滴度、体积、注射脑区、坐标、观察结果时间等）、病毒载体使用结果（荧光信号情况、目标基因表达情况、实验结果）等。

**载体工程中心服务细则**

* 1. **构建pAAV载体质粒**

载体工程中心可根据北京脑中心科研人员的实验需求构建所需的pAAV载体质粒；为鼓励共享，将对同意共享的pAAV载体质粒构建服务提供额外优惠。如果申请者同意共享，载体工程中心将会把所构建的pAAV质粒纳入共享库；如果申请者不同意共享，载体工程中心将不会保留任何质粒、菌液备份。注意，只有当现有共享质粒库中没有申请人所提供的模板（基因或元件）时，才可选择不共享。

注意：载体工程中心目前的克隆服务仅限于构建病毒载体，克隆完成后自然推进至“[1.12 按需包装、浓缩rAAV病毒载体](#Service112_按需包装、浓缩rAAV病毒载体)”服务，并按照相应病毒包装服务收费。

请北京脑中心科研人员按照以下流程申请rAAV病毒载体构建服务。

1. 申请者根据自己实验所需选择构建pAAV克隆表达框的启动子、目的基因、荧光标记、调控元件等具体细节。载体工程中心的共享质粒库中保存有多种不同用途的元件可供选择，请自行查阅。如有任何问题，欢迎随时联系咨询。
2. 如需要克隆尚未包含在共享质粒库中的基因或元件，申请人需提供克隆模板质粒、质粒图谱、目的基因或元件序列等必要信息。如需人工合成该基因或元件，请由实验室自行向公司提交合成申请并支付合成费用。
3. 在与载体工程中心工作人员沟通之后，请填写“构建病毒载体克隆”（[Form\_VC131](Form_VC131_Viral_vector_construction.docx)）服务申请表，通过邮件发送给载体中心管理员（鞠英姿，juyingzi@cibr.ac.cn），并抄送给申请人所在实验室负责人（PI或技术中心主任）和载体工程中心主任（赵非，zhaofei@cibr.ac.cn）。请详细说明具体要求，并包含质粒图谱、表达基因序列（可选）等详细信息。如果有待克隆基因或元件的模板，请提供给载体工程中心工作人员。
4. 克隆过程中，如遇到任何问题，载体工程中心将及时与服务申请人联系沟通。
5. 待克隆完成后，载体工程中心将会以邮件形式通知申请人，并同时开始rAAV病毒包装工作。

*注：一般情况下，rAAV载体质粒构建耗时约1-2周，但具体时间视构建难易程度而定。*

**载体工程中心服务细则**

* 1. **按需包装、浓缩Lentivirus或Retrovirus病毒载体**

载体工程中心为北京脑中心各实验室科研人员提供Lentivirus或Retrovirus病毒载体的按需包装和浓缩服务。因为Lentivirus和Retrovirus载体多用于特定目的基因的表达，往往各实验室无法通用，因此载体工程中心不储备这两种病毒载体的预包装现货。

目前载体工程中心使用的Lentivirus（第二代）和Retrovirus包装均为VSV-G泛嗜性糖蛋白包装体系。科研人员可以选择由载体工程中心提供全部Lentivirus和Retrovirus包装服务，也可以自己进行转染而由载体工程中心提供纯化浓缩服务。

为鼓励实验材料共享，载体工程中心特针对同意共享的Lentivirus和Retrovirus包装服务提供额外优惠。如果同意共享，载体工程中心将会把申请者提供的包装质粒或包装系统纳入共享库；如果申请者不同意实验材料共享，载体工程中心将不会保留任何质粒、菌液、或病毒载体备份。

注意：一般用于体外转导细胞的Lentivirus和Retrovirus无须浓缩，可通过调整病毒载体体积达到合理的感染复数，仅当必须使用高浓度病毒载体时，才需要浓缩病毒。

请按照以下流程申请Lentivirus和Retrovirus病毒载体包装和浓缩服务。

1. 请需要包装浓缩Lentivirus和Retrovirus的科研人员提前联系病毒载体中心工作人员，详细咨询载体系统、包装系统、时间安排等具体信息。
2. 填写“慢病毒/逆转录病毒包装”（[Form\_VC122](Form_VC122_Lenti_Retro_Packaging.docx)）服务申请表或“自包装病毒载体浓缩”（[Form\_VC123](Form_VC123_Concentrating_selfpackaged_vector.docx)）服务申请表，以邮件方式发送给载体中心管理员（鞠英姿，juyingzi@cibr.ac.cn），并抄送给申请人所在实验室负责人（PI或技术中心主任）和载体工程中心主任（赵非，zhaofei@cibr.ac.cn）。
3. 载体工程中心会在第一时间回复邮件以确认服务申请，并以申请表为依据，按照邮件接收顺序尽快安排实验。如需更改或取消申请，请及时以邮件方式告知；若已经开始包装或浓缩病毒，则该服务无法更改或取消，载体工程中心会以邮件形式反馈。

*注：为简化服务申请流程，不再要求实验室负责人在病毒包装浓缩服务申请表签字。*

1. 如果自行提供Lentivirus和Retrovirus载体克隆，申请者可直接提供相应质粒或包装系统，由载体工程中心进行转化并继续后续包装工作；也可以提供含相应Lentivirus和Retrovirus载体质粒或包装质粒的单克隆平板或菌液（推荐），由载体工程中心扩大培养提取质粒进行病毒包装。质粒质量直接影响病毒载体包装效果，如无特殊原因，不建议申请者直接提供转染用质粒。

*注：请务必确认所提供Lentivirus和Retrovirus载体质粒的正确性。*

1. 如果需要有载体工程中心代为构建Lentivirus或Retrovirus载体质粒的克隆，请选择[“1.22 按需构建Lentivirus和Retrovirus载体质粒](#Service122_构建Lentivirus和Retrovirus载体质粒)”服务。
2. 为节省包装服务排队等候的时间，科研人员也可以自行完成转染等程序，而提供粗病毒液由载体工程中心进行Lentivirus或Retrovirus浓缩。建议至少转染1×15 cm2培养皿细胞，并在约定时间提供粗病毒液。
3. 包装浓缩完成后，载体工程中心会通过梯度稀释感染法结合荧光空斑计数或qRT-PCR测定Lentivirus或Retrovirus滴度。

*注：载体工程中心保证所包装*Lentivirus或Retrovirus*病毒载体最终滴度不低于5×106 gc/ml（或pfu/ml），但无法保证自包装病毒浓缩服务所得载体的最终滴度。*

1. 包装或浓缩服务完成后，载体工程中心将以邮件的方式通知申请人。
2. 请领取人自备冰盒，按预约时间准时到载体中心实验室（1013室）领取Lentivirus和Retrovirus病毒，并签字登记。载体工程中心将一次性将所得病毒载体交给领取者。

*注：领取后请尽快按适合实验需求的体积分装，保存于-80oC并避免反复冻融。*

为更好的进行质量控制以提高服务水平，病毒载体中心将对所有提供的病毒载体进行质量追踪，请病毒载体使用者务必及时反馈使用该病毒载体的使用情况，反馈内容包括但不限于：病毒载体名称、实验动物信息（品系、性别、年龄等）、细胞系信息（细胞系）、病毒使用参数（滴度、体积、注射脑区、坐标、观察结果时间等）、病毒载体使用结果（荧光信号情况、目标基因表达情况、实验结果）等。

**载体工程中心服务细则**

* 1. **构建Lentivirus或Retrovirus载体质粒**

载体工程中心可根据北京脑中心科研人员的实验需求构建所需的Lentivirus或Retrovirus载体质粒；为鼓励共享，将对同意共享的Lentivirus和Retrovirus载体质粒构建服务提供额外优惠。如果申请者同意共享，载体工程中心将会把所构建的Lentivirus和Retrovirus质粒纳入共享库；如果申请者不同意共享，载体工程中心将不会保留任何质粒、菌液备份。注意，只有当现有共享质粒库中不包含申请人提供的基因、元件或包装系统时，才可选择不共享。

注意：载体工程中心目前的克隆服务仅限于构建病毒载体，克隆完成后自然推进至“[1.21 按需包装、浓缩Lentivirus或Retrovirus病毒载体](#Service121_包装浓缩Lentivirus和Retrovirus)”服务，并按照相应病毒包装服务收费。

请北京脑中心科研人员按照以下流程申请Lentivirus或Retrovirus病毒载体构建服务。

1. 申请者根据自己实验所需选择构建Lentivirus或Retrovirus克隆表达框的启动子、目的基因、荧光标记、调控元件等具体细节。载体工程中心的共享质粒库中保存有多种不同用途的元件可供选择，请自行查阅。如有任何问题，欢迎随时联系咨询。
2. 如需要克隆尚未包含在共享质粒库中的基因或元件，申请人需提供克隆模板质粒、质粒图谱、目的基因或元件序列等必要信息。如需人工合成该基因或元件，请由实验室自行向公司提交合成申请并支付合成费用。
3. 在与载体工程中心工作人员沟通之后，请填写“构建病毒载体克隆”（[Form\_VC131](Form_VC131_Viral_vector_construction.docx)）服务申请表，通过邮件发送给载体中心管理员（鞠英姿，juyingzi@cibr.ac.cn），并抄送给申请人所在实验室负责人（PI或技术中心主任）和载体工程中心主任（赵非，zhaofei@cibr.ac.cn）。请详细说明具体要求，并包含质粒图谱、表达基因序列（可选）等详细信息。如果有待克隆基因或元件的模板，请提供给载体工程中心工作人员。
4. 克隆过程中，如遇到任何问题，载体工程中心将及时与服务申请人联系沟通。
5. 待克隆完成后，载体工程中心将会以邮件形式通知申请人，并同时开始Lentivirus或Retrovirus病毒包装工作。

*注：一般情况下，*病毒载体*克隆构建耗时约1-2周，但具体时间视构建难易程度而定。*

**载体工程中心服务细则**

* 1. **购买质粒和细胞系**

为方便北京脑中心各实验室开展研究工作，载体工程中心将收集各实验室的质粒和细胞系购买需求，在每月最后一周（如遇法定假日则提前）联系Addgene中国代理（北京中原公司）和北京协和细胞资源中心，协助大家购买所需的质粒和细胞系。

凡经由载体工程中心协助购买的质粒和细胞系，均将被对北京脑中心各实验室研究人员开放共享；为鼓励实验材料共享，载体工程中心将对协助购买的质粒与细胞系提供实际购买价格30%的额外补贴。

请各实验室管理员以实验室为单位按以下流程申请质粒和细胞系购买服务。

1. 请需要订购质粒者自行在Addgene官网（<http://www.addgene.org>）查询所需质粒。
2. 请需要订购细胞者自行在国家实验细胞资源共享平台（<http://www.cellresource.cn>）查询所需细胞，并确认“中国医学科学院基础医学研究所细胞资源中心”（即北京协和医院细胞库）保藏有该细胞系。
3. 请各实验室管理员汇总统计本实验室质粒和细胞系购买信息，以实验室为单位填写“质粒购买或领用”（[Form\_VC213](Form_VC213_Plasmid_purchase_request.docx)）申请表或“细胞系购买或领用”（[Form\_VC223](Form_VC223_Cellline_request.docx)）申请表，在每月最后一周以邮件方式发送给载体中心管理员（鞠英姿，juyingzi@cibr.ac.cn），并抄送给所在实验室负责人（PI或技术中心主任）和载体工程中心主任（赵非，zhaofei@cibr.ac.cn）。
4. 载体工程中心会在第一时间回复邮件以确认质粒和细胞系购买申请，并以申请表为依据，按照邮件接收顺序尽快安排购买。如需更改或取消购买申请，请及时以邮件方式告知；若已经开始购买流程，则无法更改或取消该服务，载体工程中心会以邮件形式反馈。

*注：为简化服务申请流程，不需要实验室负责人在购买申请表上签字。*

1. 所有经载体工程中心协助购买的质粒和细胞系默认为北京脑中心全体实验室共享，由载体工程中心代为保存。

*注：因为Addgene质粒到货周期较长、细胞库复苏细胞时间不定等多方原因，载体工程中心无法保证质粒和细胞系的具体到货时间。根据经验，Addgene质粒到货时间为付款并签订MTA后6周，北京协和医院细胞库细胞系到货时间为付款后4-6周。*

1. Addgene质粒多以细菌穿刺管形式运送；到货后，载体工程中心将会进行甘油管保种，并提取质粒保存，然后将穿刺管交给购买申请人。
2. 从Addgene购买的文库多以混合质粒形式运输，为保障使用者在使用该文库时拥有最佳库容，载体工程中心会在收到文库后直接转交购买申请者，由申请人对该文库按照文库提交者（depositor）简易的方法进行扩增和保存。请务必提交一份文库备份（混合菌甘油管和/或混合质粒）交给载体工程中心保存以供共享，望理解。
3. 收到细胞系取货通知后，载体工程中心将在第一时间赴北京协和医院细胞库取得所购买细胞系，并按所提供的信息进行扩增、冻存一批细胞，并进行支原体检测。
4. 如因工作安排原因实在无法由载体工程中心进行细胞系扩增，根据实际情况可能需要请细胞申请者代为进行扩增冻存工作，并将冻存的细胞（10支 × 5×106细胞/支）转交载体工程中心保藏与中心共享细胞库中，望理解。
5. 载体工程中心将在进行质粒和细胞系的扩增保种工作同时，以邮件形式通知购买这所在实验室，请购买者准时领取并进行交付登记。

**载体工程中心服务细则**

* 1. **捐赠可共享的质粒和细胞系**

为促进实验材料共享，载体工程中心将建立和管理细胞和质粒共享库，为北京脑中心各实验室的质粒和细胞系提供共享服务。为了减少分享实验材料的工作量，载体工程中心还将协助北京脑中心各实验室向其他单位和实验室提供共享材料。欢迎各实验室将各自的质粒和细胞系纳入共享库，对北京脑中心其他实验室研究人员开放共享。

**注意：请共享者务必确认所提交共享材料的正确性，载体工程中心也将通过测序等方式尽力协助确认所共享材料。**

请各实验室研究人员按以下流程共享质粒和细胞系。

1. 请共享者核对载体工程中心定期更新的共享列表或载体工程中心主页，确认准备提交共享的细胞或质粒尚未纳入共享库。
2. 在征得实验室PI同意后，请共享者填写“实验材料共享表”（[Form­\_VC231](Form_VC231_Material_deposit.docx)），并通过邮件发送给载体工程中心管理员（鞠英姿，juyingzi@cibr.ac.cn），并抄送给所在实验室负责人（PI或技术中心主任）和载体工程中心主任（赵非，zhaofei@cibr.ac.cn）。

*注：请实验室负责人在共享表上签字，以确认共享该实验材料。*

1. 载体工程中心会在第一时间回复邮件，和共享者确认共享材料具体信息，如细胞名称、培养基、培养条件、注意事项、质粒序列图谱、用途、抗性、克隆方法、适用*E.coli*菌株等（“共享质粒信息表”[Form\_VC232](Form_VC232_Plasmid_info.xlsx)或“细胞系信息表”[Form\_VC221](Form_VC221_Cellline_datasheet.docx)），并沟通提交共享材料的时间。
2. 载体工程中心将在预定的时间收取共享材料。对于共享细胞，可提供状态良好的培养细胞或冻存细胞；对于共享质粒，可提供质粒或含质粒*E.coli*菌株的单克隆平板或菌液。
3. 载体工程中心将按共享者所提供的信息对共享细胞进行扩增、冻存以及支原体检测；对共享质粒转化、甘油冻存管保种、以及质粒保存，如有条件还将进行测序验证。
4. 载体工程中心将和共享者一起完善实验材料信息，并及时更新共享库列表信息。

**载体工程中心服务细则**

* 1. **共享质粒和细胞系的领取**

载体工程中心共享细胞和质粒库对北京脑中心全体实验室开放，纳入细胞和质粒共享库的实验材料将会定期更新，欢迎北京脑中心各实验室的科研人员按照以下流程申请领用共享的实验材料。

1. 请查阅载体工程中心定期更新的细胞和质粒共享列表或载体工程中心主页，确认所需的质粒或细胞系已经保存于共享库。
2. 请共享实验材料申请者填写“质粒购买或领用”（[Form\_VC213](Form_VC213_Plasmid_purchase_request.docx)）申请表或“细胞系购买或领用”（[Form\_VC223](Form_VC223_Cellline_request.docx)）申请表；如有需要，还需填写并签署“中心内实验材料转让协议”（MTA，[Form\_VC201](Form_VC201_Internal_MTA.docx)），并通过邮件发送给载体工程中心管理员（鞠英姿，juyingzi@cibr.ac.cn）。

*注：如果材料共享者要求签署MTA，实验室*负责人需要*在MTA上签字*。

1. 载体工程中心会在第一时间回复邮件以确认质粒和细胞系领取申请，并以申请表为依据，按照邮件接收顺序尽快准备材料。
2. 对于质粒，如所需质粒存量足够，则可在当天登记领取，如库存量不足则需预约时间领取（约1周）。所领取质粒由质粒小提试剂盒提取（浓度约0.5mg/ml），溶于无菌ddH2O冻存于-80oC，领取量为5μl。
3. 申请者也可选择领取菌液，载体工程中心将由保存的甘油冻存菌接种，并提供5ml振荡培养过夜的新鲜菌液。
4. 对于细胞系，载体工程中心将根据冻存细胞储量提供冻存管或复苏的培养细胞。冻存细胞可在当天登记领取，复苏的培养细胞需预约后领取（约1-2周）。
5. 载体工程中心将尽力提供所领用质粒或细胞的具体信息（图谱、序列、抗性、培养基、培养方式等）。如有任何疑问，可随时联系载体工程中心进行咨询。

*注；请各实验室提前准备细胞培养相关培养基及血清。*

1. 材料领用者请在预约时间及时领取材料，并进行领用登记。

**注意：北京脑中心实验室可免费领用共享的细胞和质粒，但请自行妥善管理保存；再次领用同种材料需适当收费。**

****

**载体工程中心服务细则**

* 1. **超速离心机共享使用**

载体工程中心目前有三台超速离心机可供共享使用，分别为Beckmann Optima XPN-80、 XPN-90和XPN-100，配备的转头和部分兼容离心管型号详见下页“[超速离心机转头及相关配件参数信息表](#Table_VC311_超速离心机砖头及相关配件参数信息表)”（[Table\_VC311](#Table_VC311_超速离心机砖头及相关配件参数信息表)）。

超速离心机正常开放共享时间为法定工作日9:00-17:00。为便于统一管理并保证设备安全使用，超速离心机设备间设有人脸识别门禁，使用者须经授权后方可进入。未经培训的用户需接受载体工程中心管理员（鞠英姿，juyingzi@cibr.ac.cn）培训后方可被授权使用。

超速离心机实行预约使用制度，使用者需在实验前至少24小时在超速离心机预约本上预约。超速离心机的使用仅限预约者本人在预约的时段内使用预约的离心机。有特殊情况需要更换使用时间、更换实验人员、更换设备、或取消预约，需至少提前24小时告知载体工程中心管理员。同一实验人员每月更或取消预约不得超过4次，同一实验室每月更改或取消预约不得超过6次。为避免机时浪费，督促实验人员提高使用效率，超速离心机的共享为有偿使用，并由脑中心统一收费。收费以机时为单位，使用时长以预约时间为准，超过预约时间加收相应机时的使用费用；更改或取消预约需提前24小时，未在24小时之前提前通知者预约时间正常计费。

请实验人员在使用超速离心机时严格按照设备操作规范进行，非正常使用所造成的设备损坏须由使用者及其实验室负责。超速离心机使用者须在使用后迅速取走离心样品，禁止将样品长时间放置于离心机内。同时应妥善清洁离心机和转头，关闭机器，及时清理所用试剂及使用时产生的垃圾，并清洁桌面。最后请务必填写“使用登记表”。

**Rotors and Tubes Parameters of the Ultracentrifuges 超速离心机转头及相关配件参数信息表**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Ultracentrifuge****离心机型号** | **Rotor****转头** | **Capacity (Tube)****容量（管）** | **Tubes / Material \*****离心管种类/材料\*** | **Cat.#****货号** | **Accessary****所需配件** | **Vol. (mL)****容量** | **Max. Speed最大转速** | **Unit price****单价 (￥)** |
| **rpm** | ***g*** |
| Optima XPN-80Optima XPN-90Optima XPN-100 | SW 32 Ti | 6 | Thinwall Polypropylene Tube | 326823 | / | 38.5 | 32 000 | 175 000 | 50 |
| 6 | Thinwall Ultra-Clear Tube | 344058 | / | 38.5 | 32 000 | 175 000 | 40 |
| 6 | Thickwall Polycarbonate Tube | 355631 | / | 31.0 | 32 000 | 175 000 | 45 |
| SW 41 Ti | 6 | Thinwall Ultra-Clear Tube | 344059 | / | 13.2 | 41 000 | 288 000 | 40 |
| 6 | Thinwall Polypropylene | 331372 | / | 13.2 | 41 000 | 288 000 | 40 |
| SW 55 Ti | 6 | Thinwall Ultra-Clear Tube | 344057 | / | 5.0 | 55 000 | 368 000 | 40 |
| 6 | Thinwall Polypropylene Tube | 326819 | / | 5.0 | 55 000 | 368 000 | 15 |
| 6 | Thickwall Polycarbonate Tube | 349622 | / | 3.5 | 55 000 | 368 000 | 60 |
| Type 45 Ti | 6 | Polycarbonate Bottle Assembly | 355622 | / | 70.0 | 45 000 | 235 000 | 120 |
| 6 | Polycarbonate Bottle | 355655 | 355623 | 70.0 | 45 000 | 235 000 | 80 |
| 6 | Quick-Seal Polypropylene | 345776 | 342697 | 94.0 | 45 000 | 235 000 | 100 |
| 6 | Quick-Seal Ultra-Clear | 345778 | 342697 | 94.0 | 45 000 | 235 000 | 65 |
| Type 70 Ti | 8 | Polycarbonate Bottle with Cap Assembly | 355618 | / | 26.3 | 60 000 | 371 000 | 280 |
| 8 | Polycarbonate Bottle | 355654 | / | 26.3 | 60 000 | 371 000 | 30 |
| Type 90 Ti | 8 | Polycarbonate Bottle | 355651 | / | 10.4 | 65 000 | 362 000 | 20 |
| 8 | Quick-Seal Ultra-Clear Tube | 344322 | 342695 | 13.5 | 90 000 | 694 000 | 20 |
| 8 | Quick-Seal Polypropylene Tube | 342413 | 342695 | 13.5 | 90 000 | 694 000 | 50 |
| NVT 65.2 | 16 | OptiSeal™ Polypropylene Tube | 362185 | 362198 | 4.9 | 65 000 | 416 000 | 25 |
| 16 | Quick-Seal Polypropylene Tube | 342412 | 342883 | 5.0 | 65 000 | 416 000 | 15 |

\* Information updated on 2019/11/30. 所列离心管为2019/11/30统计库存。

**载体工程中心服务细则**

* 1. **常规小型仪器设备共享**

为更好的提高实验仪器使用效率，避免重复建设重复购置，载体工程中心在保证自身正常实验活动和服务工作的前提下，向北京脑中心各实验室开放部分常规小型实验仪器和设备的共享服务，以更好的协助科研工作。

目前目前可开放共享的设备包括：1台qPCR仪、2台普通PCR仪、1台正置荧光显微镜、1台BSL-2生物安全柜（位于BSL-2细胞房）、1台层流超净工作台（超净台）、1个微生物培养箱、2台振荡培养箱（摇床）、凝胶成像系统、灭菌锅、超声波破碎仪等小型设备。

有需求者请直接联系载体工程中心人员进行共享咨询、使用培训、或预约登记。

请实验人员在使用共享仪器时严格按照设备操作规范进行，非正常使用所造成的设备损坏须由使用者及其实验室负责。实验人员在使用共享仪器时应遵守本实验室规范，及时取回样品、及时清理所用试剂及使用时产生的垃圾、保证实验室清洁。

****

**载体工程中心服务细则**

* 1. **BSL-2实验室和常规实验空间共享**

载体工程中心实验室已经正式在昌平区卫生健康委员会备案为生物安全1级（BSL-1）和生物安全2（BSL-2）级实验室，可在备案申请的范围内开展病原微生物相关的实验活动。

为更好的提高实验空间使用效率，避免重复建设，载体工程中心在保证自身正常实验活动和服务工作的前提下，向北京脑中心各实验室开放部分BSL-2实验室空间，以更好的协助科研工作。如需了解备案申请所覆盖的实验内容和病原微生物种类，请咨询北京脑中心生物安全管理委员会或载体工程中心工作人员。

出BSL-2实验空间外，载体工程中心还将视实际情况开放部分常规实验区域用于共享。有需求者请直接联系载体工程中心人员进行共享咨询、使用培训、或预约登记。。

请实验人员在使用共享空间时严格按照生物安全制度进行操作，并遵守载体工程中心实验室有关规定并保证实验室清洁，在实验结束后及时收取样品、清理所用试剂、清洁实验空间、并处理产生的垃圾，因违规操作所造成的实验事故须由使用者及其实验室负责。

**载体工程中心服务细则**

* 1. **质粒大提（maxiprep）服务**

载体工程中心可为实验室人员提供无内毒素质粒大提服务，请需要此服务的脑中心科研人员按以下流程申请服务。

1. 至少提前1周与载体工程中心工作人员联系，确认时间安排，并预约质粒大提时间。
2. 在与载体工程中心工作人员沟通之后，请填写“质粒大提”（[Form\_VC411](Form_VC411_Plasmid_maxiprep.docx)）服务申请表，注明质粒名称（或编号）、大小、抗性、拷贝数情况、所用*E.coli*菌株等具体信息，并以邮件形式发送给载体中心实验室管理员（鞠英姿，juyingzi@cibr.ac.cn）。
3. 如所需大提的质粒已在共享质粒库中，申请者可直接提供共享质粒编号；如果申请者自行提供质粒，可提供小量质粒、单克隆平板（推荐）、或培养菌液（视拷贝数高低分别提供200-500 ml新鲜菌液）。
4. 载体工程中心将在完成质粒提取并测定浓度和质量后联系申请人，请申请人准时领取并进行交付登记。

**载体工程中心服务细则**

* 1. **培养细胞支原体检测服务**

载体工程中心将在每月提供培养细胞的支原体检测服务（如遇法定假期则顺延），具体检测时间将由本载体工程中心管理员前月末以邮件方式告知北京脑中心各实验室。

**注意：载体工程中心不接受任何BSL-3及以上安全等级的细胞检测样品。**

请实验室管理员以实验室为单位按以下流程申请支原体检测服务。

1. 送检者需将待检测细胞培养3-6天后，取2 ml上清液分装于2支1.5ml无菌的微量离心管中（A管用于检测，B管作为备份），分别标记样品名称后，密封暂存于-80℃冰箱。

*注：待检测样品建议当月准备，保存时间勿超过1个月。*

1. 请各实验室管理员以实验室为单位统计收集当月所需检测样本，填写“支原体检测”（[Form\_VC412](Form_VC412_Mycoplasma_Test.docx)）服务申请表后，在要求的时间之前以邮件方式发送给载体中心管理员（鞠英姿，juyingzi@cibr.ac.cn），并将标记好的待检测样在要求的时间交给载体中心管理员（鞠英姿，1013室）。
2. 在完成支原体检测实验后，载体工程中心将在一周内以邮件方式反馈检测报告。

*注：载体工程中心目前使用上海翊圣GMyc-PCR试剂盒（Cat#40601ES20）进行支原体检测，具体方法请参见Nat Protoc. 2010;5(5):929-34。*

**载体工程中心服务细则**

* 1. **常用细胞培养和分子克隆试剂的应急供应**

载体工程中心会集中采购部分常用的细胞培养和分子克隆试剂，为北京脑中心各实验室提供常用试剂的应急供应服务，以协助大家顺利开展研究工作。

该服务目前覆盖常用的细胞培养相关试剂（血清、培养基、培养基添加物、双抗、胰酶等）和分子克隆相关试剂（如常见限制性内切酶、DNA聚合酶等）。后期还将根据实验室具体需求和实际情况进行调整。

在法定工作日9:00-17:00，试剂申领者可直接前往载体工程中心办公室（RM1001）或实验室（RM1013）联系任何工作人员，并由工作人员将需领用试剂交给领用者，并进行领用登记。在法定工作时间之外，试剂申领者需首先通过电话或微信联系载体工程中心负责人的管理员（鞠英姿，juyingzi@cibr.ac.cn，13817873891），经同意后方可自行取用，请务必妥善做好领用登记并注明自行取用。**为了减少分享实验材料的浪费，每种试剂领取者每次只能按最小包装领取。**

载体工程中心将按自然月统计所各实验室应急试剂领用量，根据试剂实际购买价格计算费用，经PI或实验室负责人确认后提交财务，由北京脑中心统一收取。

***注意：目前试剂供应仅限于临时应急，常规试剂采购请各实验室自行联系经销商。***

******